

健常児・成人の上咽頭由来肺炎球菌の耐性化動向の検討 —感染症治療戦略を考慮した上咽頭細菌叢の検討—

金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻感覚運動病態学分野
(旧講座名：耳鼻咽喉科学)
(主任：古川 仰教授)

永 田 理 希

1990年代より、遷延、重症化し反復して治療に難渋する急性中耳炎を始めとする上気道感染症が増加し、問題となってきた。これは急性中耳炎の起炎菌である肺炎球菌やインフルエンザ菌などの細菌の薬剤耐性化が主な原因であると考えられている。これらの細菌は健常者からも検出される上咽頭細菌叢としての側面も持ち合わせているが、その蔓延の危険因子として集団保育が指摘されている。1999年に当教室では、本邦における保育園児および保育園職員の上咽頭細菌叢の調査をはじめて報告したが、本研究では前回と同じ保育園において追跡調査を実施し、上咽頭における肺炎球菌の検出状況の変化を検討した。また、近年になり成人においても難治性の中耳炎をはじめとした上気道感染症の増加が報告されていることから、健康成人の上咽頭細菌叢における肺炎球菌の動向に関しても検討を行った。その結果、保育園児の上咽頭肺炎球菌保菌率は、2004年の夏季には68.8%、2005年の冬季には88.9%であり、6年前と同様に高い保菌率を示していた。健康成人においては2004年の夏季には2.9%、2005年の冬季には5.3%であり、園児と比べてかなり低い保菌率であった。さらに、保育園児の上咽頭から検出された肺炎球菌の薬剤耐性について、PBP遺伝子変異分類により解析を行った結果、6年前よりペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP, PISP) のうちPRSPは減少し、耐性化がむしろ減弱していることが示された。また、2004年夏季には*pbp2x*単独変異株59.1%、*pbp1a*、*pbp2x*の複合変異株36.4%であったが、2005年冬季には*pbp2x*単独変異株6.3%、*pbp1a*、*pbp2x*の複合変異株90.6%と、同じPISPに分類される菌株でもわずか5か月間でPBP遺伝子変異の進行がみられた。 β ラクタム系薬剤の最小発育阻止濃度の検討から、この薬剤耐性化の進行はペニシリン系抗菌薬に比べてセファロsporin系抗菌薬の耐性化がより進行していることが示された。

Key words penicillin highly resistant *Streptococcus Pneumoniae*, penicillin intermediate resistant *Streptococcus Pneumoniae*, penicillin binding protein, minimal inhibitory concentration.

はじめに

細菌感染症は医療機関の規模や診療科の違いに関係なく、ほとんど全ての臨床医が第一線で診断・治療に関わる疾患であるが、ペニシリンの発見以来、各種の抗菌薬の開発が進み抗菌化学療法の発展が続いたために、逆に臨床現場においては安易な経験的治療が続けられてきたように思われる。その結果、昨今の細菌感染症を取り巻く現状は、20世紀の抗菌化学療法の負の遺産ともいべき耐性菌の増加が、人類の生存にも影響を及ぼしうる大きな問題を提起している。このことから近年、感染部位の常在細菌叢や各疾患の好発起炎菌、さらには宿主の状態や抗菌薬の薬物動態学、薬力学をふまえて、理論的に抗菌薬治療

をすべきであるとの認識が広まりつつある。このことは感染症専門医制度や各病院における院内感染対策チームの取り組みなどにも現れてきているが、今後はそのような感染症の専門家ばかりではなく、全ての臨床医が細菌感染症の診断・治療に対する正しい知識をもつことが望まれる。

しかしながら現状では長く続いた抗菌薬の濫用のために、メチシリン耐性ブドウ球菌 (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) をはじめとした院内耐性菌感染症ばかりではなく、不特定多数の健常者が罹患する市中感染症の領域にまで薬剤耐性化の影響が深刻な問題を提起している。たとえば1990年代後半から本邦の日常臨床において問題となっているペニシリン耐性肺炎球菌 (penicillin resistant *Streptococcus Pneumoniae*,

平成17年11月2日受付, 平成17年11月9日受理

Abbreviations: ABPC, ampicillin; AMPC, amoxicillin; BLNAR, β -lactamase negative ampicillin-resistant *Haemophilus Influenzae*; CCL, cefaclor; CDTR, cefditoren; CFDN, cefdinir; CLDM, clindamycin; CPDX, cefpodoxime; MIC, minimal inhibitory concentration; NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards; PBP, penicillin binding protein; PCG, benzylpenicillin; PISP, penicillin intermediate resistant *Streptococcus Pneumoniae*; PSSP, penicillin susceptible *Streptococcus Pneumoniae*; PRSP, penicillin highly resistant *Streptococcus Pneumoniae*

PRSP) の増加や、2000年頃からの β -ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性インフルエンザ菌 (β -lactamase negative ampicillin-resistant *Haemophilus Influenzae*, BLNAR) の急激な増加がみられており、従来は抗菌薬治療を行うにあたって、あまり問題とならなかったような菌種によって引き起こされる市中感染症においても、耐性菌の増加に伴う感染症の難治化・反復化がみられるようになってきている¹⁾²⁾。

耳鼻咽喉科領域においても、従来経口抗菌薬の投与によってすみやかに治癒していた急性中耳炎が、経口抗菌薬治療にも関わらず感染が遷延したり、抗菌薬を止めるとすぐに再発する反復性中耳炎症例が増加してきている。この原因として、急性中耳炎の起炎菌である肺炎球菌、インフルエンザ菌などの薬剤耐性化が指摘されている³⁾⁴⁾。耐性菌感染症の治療戦略を検討するには、それぞれの国や地域ごとの耐性菌の分離頻度・耐性率・年次推移などの実態の疫学調査が重要であることはいうまでもない。これまでに急性中耳炎起炎菌の耐性化動向については様々な報告^{5)~7)}がみられ、耐性菌感染症の危険因子のひとつとして、集団保育とくに0歳児を含む低年齢保育があることが知られている。1999年に伊藤ら⁸⁾が行なった低年齢保育園の園児および保育園職員の上咽頭検出細菌の調査は、本邦における耐性肺炎球菌の拡散の実態をはじめ報告したものであるが、その調査から5~6年後にあたる今回、同じ保育園における追跡調査を行ない、検出された肺炎球菌について遺伝子変異パターンの変化を含めて以前の結果と比較検討した。また同じ保育園における季節の違い(夏季と冬季)による肺炎球菌検出動向についても検討した。さらにこれまで本邦においてまとまった報告のみられなかった、健康成人の上咽頭細菌叢における肺炎球菌の動向に関しても調査を行い、夏季と冬季を比較検討した。

対象と方法

I. 対象

今回の研究では、0~3歳児保育を行っている石川県内A保育園の、2004年8月中旬に園児37名と保育園職員11名、2005年1月下旬に園児41名と保育園職員16名のうち、耳鼻咽喉科健診希望者を対象として、2004年8月中旬に園児32名、保育園職員8名と2005年1月下旬に園児36名、保育園職員11名から採取した上咽頭擦過液を検体として使用した。そして、これから得られた肺炎球菌検出株の結果を、1999年1月に園児30名、保育園職員15名から検体を採取した伊藤ら⁸⁾の調査結果と比較した。また北陸予防医学協会(富山県)の健康診断を受診した成人のうち耳鼻咽喉科健診希望者を対象として、2004年6月~9月までの4ヶ月間(夏季)に240名、2004年12月~2005年1月の2ヶ月間(冬季)に265名、総数として505名の健康成人上咽頭から検出された肺炎球菌について検討した。

II. 方法

耳鼻咽喉科健診希望者より、輸送用培地トランスワブENT (Medical Wire & Equipment Co Ltd, Corsham, England) を用いて採取した上咽頭擦過液を用いて検討を行った。上咽頭擦過液の採取は、経鼻的に行い上記検体採取用の綿棒を総鼻道に沿って挿入し、綿棒の先端が上咽頭に突き当たったところで2~3回、綿棒を回転させることによって上咽頭を擦過した。

肺炎球菌、インフルエンザ菌、モラキセラ・カタラーリスの

スクリーニングは、株式会社SRL北陸にて行った。検体採取日に、分離培養は5%羊血液寒天培養およびチョコレート寒天培地(日本ベクトン デイッキンソン、東京)にて35℃5%炭酸ガス培養、BTB寒天培地(日本ベクトン デイッキンソン)にて35℃好気培養を行った。肺炎球菌の同定は、コロニー性状の確認を行い、オプトヒンディスク感受性にて阻止円が13mm以上のものとし、必要に応じてAPIストレップ同定キット(日本ビオメリュー社、東京)を用いて確認をした。モラキセラ・カタラーリスの同定は、上記の冬季の検体のみ施行し、まず、コロニー性状の確認を行い、オキシダーゼテスト、カタラーゼテスト、DNAテストにていずれも陽性となったものとし、必要に応じてIDテストHN20ラビット同定キット(ニッスイ、東京)を用いて確認した。

検出された肺炎球菌は、マイクロバンク (Microbank, Pro-Lab Diagnostics, Ontario, Canada) にて凍結保存したうえで、明治製菓中央研究所に送付され、血液寒天培地(日本ベクトン デイッキンソン)に塗布し、37℃、5%炭酸ガス培養を行い単一コロニーを使用し、微量液体希釈法による感受性および最小発育阻止濃度(minimal inhibitory concentration, MIC)測定、PCR法による遺伝子検索を行った。

肺炎球菌の遺伝子検索はペニシリン耐性肺炎球菌遺伝子検出試薬のキット商品(湧永製薬、広島)を用いて行い、肺炎球菌の確認には、自己融解酵素を支配する*lytA*遺伝子を検出し、ペニシリン結合蛋白 (penicillin binding protein, PBP) 遺伝子の検出には、*pbp1a* 遺伝子、*pbp2b* 遺伝子、*pbp2x* 遺伝子の変異を検討した。マクロライド耐性遺伝子の検出には、rRNAメチラーゼをコードする*ermB* 遺伝子と薬剤排泄機構システムの膜蛋白をコードする*mefA* 遺伝子を検討した。

III. 微量液体希釈法による耐性化の分類

日本化学療法学会標準法に従い、フローズンプレート栄研(栄研化学、東京)を用いた微量液体希釈法にて測定し、肺炎球菌は米国臨床検査標準委員会 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) の判定基準⁹⁾に準拠し、ベンジルペニシリン (benzylpenicillin, PCG) に対するMICがそれぞれ0.06 μ g/ml以下であるものをペニシリン感性肺炎球菌 (penicillin susceptible *Streptococcus Pneumoniae*, PSSP)、0.125 μ g/ml~1.0 μ g/mlのものをペニシリン中等度耐性肺炎球菌 (penicillin intermediate resistant *Streptococcus Pneumoniae*, PISP)、2.0 μ g/ml以上のものをペニシリン耐性肺炎球菌 (penicillin highly resistant *Streptococcus Pneumoniae*, PRSP) と判定した。

検討した被験薬剤は、ベンジルペニシリンPCG、アンピシリン (ampicillin, ABPC)、セフジトレン (cefditoren, CDTR)、セフポドキシム (cefepodoxime, CPDX)、セフジニール (cefdinir, CFDN)、セファクロール (cefaclor, CCL) の6薬剤とした。

なお、伊藤ら⁸⁾の報告した1999年1月(冬季)のA保育園の園児と保育園職員においては、MIC測定は実施されておらず、今回の結果との比較検討は行なわなかった。

IV. PBP遺伝子による耐性化の分類

肺炎球菌の耐性化の分類は、Ubukataら¹⁰⁾が報告している*pbp1a* 遺伝子、*pbp2b* 遺伝子、*pbp2x* 遺伝子のPBP遺伝子解析結果に基づき、3つのPBP遺伝子ともに変異の認められない株を

PSSP, 1つもしくは2つの遺伝子に変異のある株を PISP, 3 遺伝子に変異した株を PRSP と判定した。

V. 統計学的分析

解析方法は項目の性質に応じてフィッシャーの直接法を用いた。P<0.05をもって統計学的に有意差ありと判定した。

成 績

I. 健康乳幼児・成人における肺炎球菌検出率

A 保育園の園児では、1999 年 1 月 (冬季) には 83.3 % (30 人中 25 人から検出) であったが、2004 年 8 月 (夏季) には 68.8 % (32 人中 22 人から検出) , 2005 年 1 月 (冬季) には 88.9 % (36 人中 32 人から検出) であり、依然、高い保菌率を示していた。A 保育園の職員では、1999 年 1 月 (冬季) には肺炎球菌は全く検出されなかったが(15 人中), 2004 年 8 月 (夏季) には 12.5 % (8 人中 1 人から検出), 2005 年 1 月 (冬季) には 27.3 % (11 人中 3 人から検

出) と、園児に比べると少数ではあるが検出された。一方、健診を受診した健康成人では 2004 年夏季には 2.6 % (240 人中 6 人から検出), 2005 年冬季には 5.3 % (265 人中 14 人から検出) であり、肺炎球菌検出率は低かった。(図 1)

II. 健康乳幼児・成人の肺炎球菌の耐性率

1. 肺炎球菌の PBP 遺伝子解析に基づく耐性分類

A 保育園の乳幼児では、1999 年 1 月 (冬季) には、検出された肺炎球菌 25 株中、PSSP 3 株 (12.0 %), PISP 9 株 (36.0 %), PRSP 13 株 (52.0 %) であり、PRSP が約半数を占めていたが、2004 年 8 月 (夏季) には、検出された肺炎球菌 22 株中、PSSP 株は 0 株、PISP 21 株 (95.5 %), PRSP 1 株 (4.5 %), 2005 年 1 月 (冬季) には、検出された肺炎球菌 32 株中、PSSP 株は 0 株、PISP 31 株 (96.9 %), PRSP 1 株 (3.1 %) であり (図 2), 夏季と冬季ともに PISP 株が大多数を占めており、1999 年と比較して、PRSP が減少し PISP が著明に増加していた。

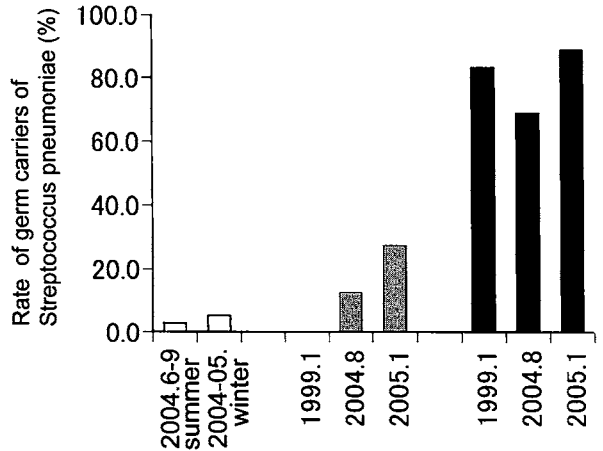


Fig.1. Ratio of germ carriers of Streptococcus pneumoniae. □, adults in good health (medical examination) n=240 (2004.6-9), n=265 (2004.05.winter); ▨, nursery-school staffs n=15 (1999.1), n=8 (2004.8), n=11 (2005.1); ■, nursery-school children n=30 (1999.1), n=32 (2004.8), n=36 (2005.1).

Table 1. Distribution of Streptococcus pneumoniae in nursery school-staffs and adults in good health according to penicillin binding gene mutation

Classification	Nursery-school staffs			Adults in good health (medical examination)	
	1991.1	2004.8	2005.1	2004 6-9	2005 12-1
PSSP	0	0	0	1	9
PISP	0	1	3	2	6
PRSP	0	0	0	3	1
Total	0	1	3	6	16

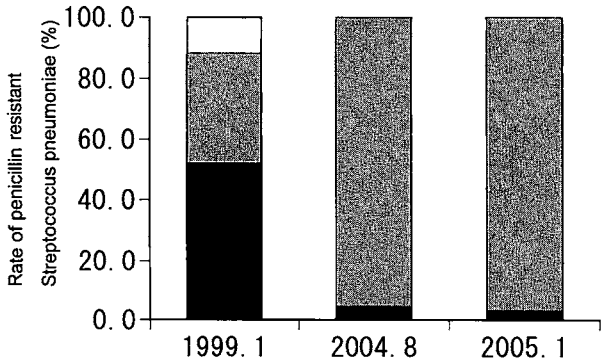


Fig.2. Distribution of Streptococcus pneumoniae in nursery-school children according to PBP gene mutation. □, PSSP (penicillin susceptible Streptococcus pneumoniae) ; ▨, PISP (penicillin intermediate resistant Streptococcus pneumoniae); ■, PRSP (penicillin highly resistant Streptococcus pneumoniae). n=25 (1999.1), n=22 (2004.8), n=32 (2005.1)

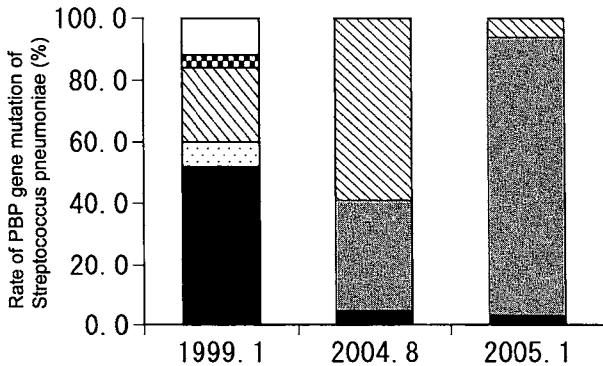
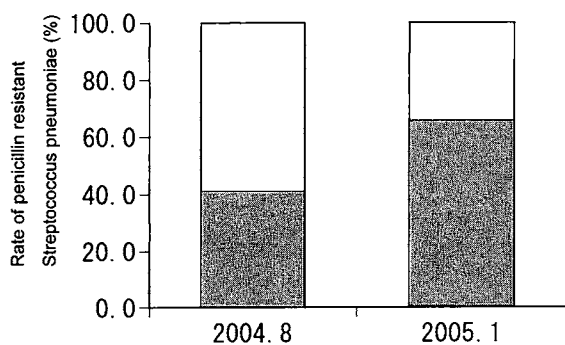


Fig.3. PBP gene mutation in the Streptococcus pneumoniae gene from nursery-school children. □, negative; ▨, pbb1a; ▨, pbb2x; ▨, pbb1a+2x; ▨, pbb2b+2x; ■, pbb1a+2x+2b n=25 (1999.1), n=22 (2004.8), n=32 (2005.1)

Table 2. PBP mutation in the *Streptococcus pneumoniae* gene in nursery-school staffs and adults in good health

Gene	Nursery-school staffs			Adults in good health (medical examination)			
	No.			No.			
	1991.1	2004.8	2005.1	2004	6-9	2005	12-1
non	0	0	0	1		9	
1a	0	0	0	0		0	
2b	0	0	0	0		0	
2x	0	1	1	1		5	
1a+2x	0	0	2	1		0	
2b+2x	0	0	0	0		1	
1a+2b	0	0	0	0		0	
1a+2b+2x	0	0	0	3		1	
Total	0	1	3	6		16	

Fig.4. Resistance classification by MIC value of *Streptococcus pneumoniae* from nursery-school children. □, PSSP; ■, PISP. n=25 (1999.1), n=22 (2004.8), n=32 (2005.1)

A 保育園の成人職員では、1999年1月 (冬季) には肺炎球菌は全く検出されなかったが、2004年8月 (夏季) には、検出された肺炎球菌1株はPISPであり、2005年1月 (冬季) には、検出総数3株全てがPISPであった。

健診を受診した健康成人では、2004年夏季には検出された肺炎球菌6株中PSSP 1株 (16.7%), PISP 2株 (33.3%), PRSP 3株 (50.0%) であった。2005年冬季には検出された肺炎球菌16株中PSSP 9株 (56.3%), PISP 6株 (37.5%), PRSP 1株 (6.2%) であった。(表1)

2. 肺炎球菌のPBP遺伝子変異パターンの検討

A 保育園の園児では、1999年1月 (冬季) には検出された肺炎球菌25株中、PBP遺伝子変異のないPSSPが3株 (12.0%), *pbp1a* 単独変異株が1株 (4.0%), *pbp2x* 単独変異株が6株 (24.0%), *pbp2b* と *pbp2x* に変異のある株が2株 (8.0%), *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x* 全ての変異のあるPRSPが13株 (52.0%) と、PRSP株が約半数を占め *pbp2x* 単独変異株は比較的少なかったのに対し、2004年8月 (夏季) には検出された肺炎球菌22株中、*pbp2x* 単独変異株が13株 (59.1%), *pbp1a* と *pbp2x* に変異のある株が8株 (36.4%), *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x* 全ての変異のあるPRSP株が1株 (4.5%) と *pbp2x* 単独変異株が半数を超えており、

Table 3. Distribution of *Streptococcus pneumoniae* in nursery-school staffs and adults in good health according to the presence of the macrolide resistance gene

Gene	Nursery-school staffs			Adults in good health (medical examination)			
	No.			No.			
	1999.1	2004.8	2005.1	2004	6-9	2005	12-1
non	0	0	0	2		9	
<i>mefA</i>	0	0	1	4		3	
<i>ermB</i>	0	1	2	0		4	
<i>mefA</i> and <i>ermB</i>	0	0	0	3		1	
Total	0	1	3	6		16	

Table 4. Resistance classification by MIC value of *Streptococcus pneumoniae* in nursery-school staffs and adults in good health

Classification	Nursery-school staffs			Adults in good health (medical examination)			
	No.			No.			
	1991.1	2004.8	2005.1	2004	6-9	2005	12-1
PSSP	0	1	2	2		15	
PISP	0	0	1	2		0	
PRSP	0	0	0	2		1	
Total	0	1	3	6		16	

2005年1月 (冬季) には、検出された肺炎球菌32株中、*pbp2x* 単独変異株は2株 (6.3%), *pbp1a* と *pbp2x* ともに変異のある株は29株 (90.6%), *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x* 全ての変異のあるPRSP株は1株 (3.1%) であり、*pbp1a* と *pbp2x* の重複変異株が大多数を占めていた (図3)。

A 保育園の職員では、2004年8月 (夏季) には、検出された肺炎球菌1株は *pbp2x* 単独変異株であり、2005年1月 (冬季) には、検出された肺炎球菌3株中、*pbp2x* 単独変異が1株 (33.3%), *pbp1a* と *pbp2x* ともに変異のあるものが2株 (66.7%) であった。

健診を受診した健康成人では、2004年夏季には、検出された肺炎球菌6株中、PBP遺伝子変異のないPSSP株が1株 (16.7%), *pbp2x* 単独変異株は1株 (16.7%), *pbp1a* と *pbp2x* ともに変異のある株は1株 (16.7%), *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x* 全ての変異のあるPRSP株は3株 (50.0%) であった。

2005年冬季では、検出された肺炎球菌16株中、PBP遺伝子変異のないPSSP株が9株 (56.3%), *pbp2x* 単独変異株は5株 (31.3%), *pbp2b* と *pbp2x* ともに変異のある株は1株 (6.2%), *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x* 全ての変異のあるPRSP株は1株 (6.2%) であった。(表2)

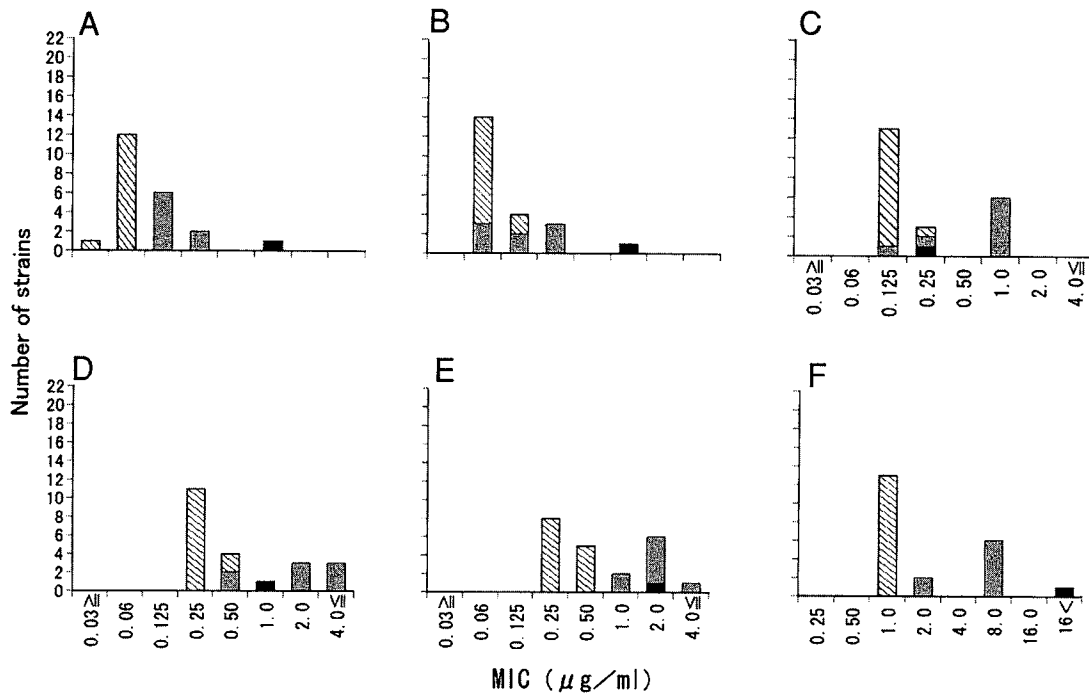


Fig.5. Correlation between MIC value of 6 β -lactam antibiotics and PBP gene mutations for 22 strains of *Streptococcus pneumoniae* from nursery-school children in 2004 summer. ▨, pbp2x; ▤, pbp1a+2x; ■, pbp1a+2x+2b; A, bezylpenicillin; B, ampicillin; C, cefditoren; D, cefpodoxime; E, cefdinir; F, cefaclor.

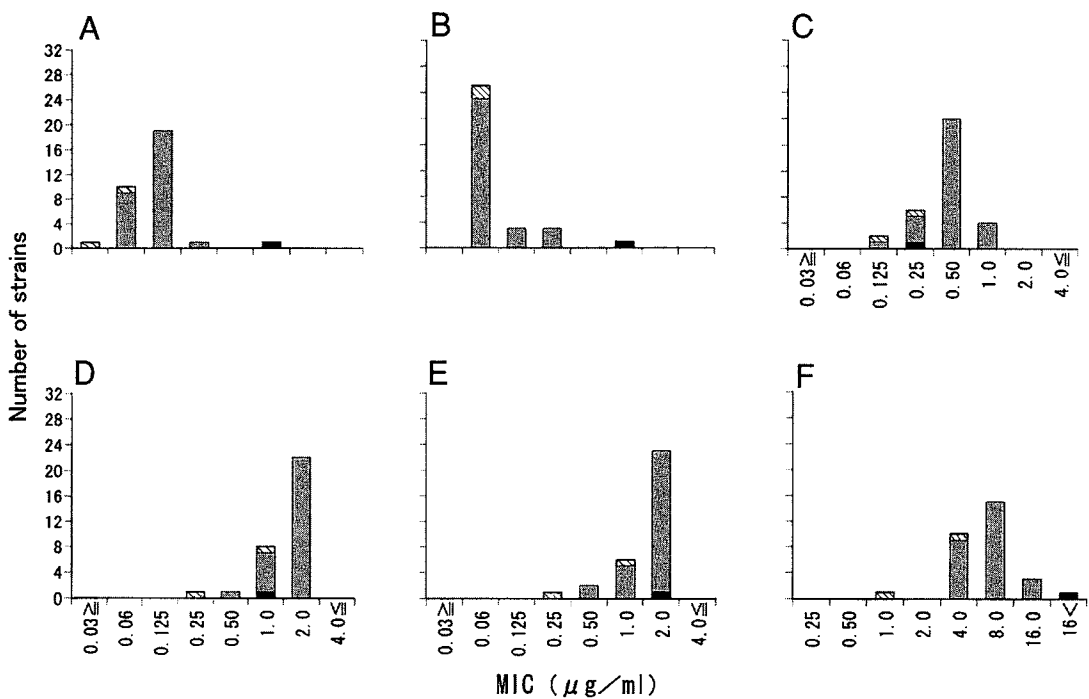


Fig.6. Correlation between MIC value of 6 β -lactam antibiotics and PBP gene mutations for 32 strains of *Streptococcus pneumoniae* from nursery-school children in 2005 winter. ▨, pbp2x; ▤, pbp1a+2x; ■, pbp1a+2x+2b; A, bezylpenicillin; B, ampicillin; C, cefditoren; D, cefpodoxime; E, cefdinir; F, cefaclor.

3. 肺炎球菌の微量液体希釈法による耐性分類 (NCCLS 基準)

A 保育園の園児では、2004 年 8 月 (夏季) においては、検出された肺炎球菌 22 株中、PSSP 株が 13 株 (59.1 %), PISP 株が 9 株 (40.9 %), PRSP 株が 0 株、2005 年 1 月 (冬季) においては、検出された肺炎球菌 32 株中、PSSP 株が 11 株 (34.4 %), PISP 株が 21 株 (65.6 %), PRSP 株が 0 株であった。(図 4)

A 保育園の職員では、2004 年 8 月 (夏季) においては、検出された肺炎球菌 1 株は PSSP 株であった。2005 年 1 月 (冬季) においては、検出された肺炎球菌 3 株中、PSSP 株が 2 株 (66.7 %), PISP 株が 1 株 (33.3 %), PRSP 株が 0 株であった。

健康成人の健診希望者では、2004 年夏季においては検出された肺炎球菌 6 株において PSSP 株が 2 株 (33.3 %), PISP 株が 2 株 (33.3 %), PRSP 株が 2 株 (33.3 %) であった。2005 年冬季においては、検出された肺炎球菌 16 株において PSSP 株が 15 株 (93.8 %), PISP 株が 0 株 (0.0 %), PRSP 株が 1 株 (6.2 %) であった。(表 4)

4. 保育園児から検出された肺炎球菌の PBP 遺伝子変異と β ラクタム系抗菌薬の感受性分布

A 保育園の園児では、ペニシリン系抗菌薬である PCG の感受性は 2004 年 8 月 (夏季) には MIC のピークが $0.06 \mu\text{g/ml}$ を示しており、これが冬季では MIC のピークが $0.125 \mu\text{g/ml}$ と一管の上昇を認めた。同じペニシリン系抗菌薬の ABPC では、夏季も冬季も変わらずに $0.06 \mu\text{g/ml}$ であった。一方、セフェム系抗菌薬である CDTR では、2004 年 8 月 (夏季) には MIC のピークが $0.125 \mu\text{g/ml}$ を示し、冬季では $0.5 \mu\text{g/ml}$ と 2 管の上昇がみられ、同じセフェム系抗菌薬の CPDX や CFDN では夏季に MIC のピークが $0.25 \mu\text{g/ml}$ であったものが冬季には $2.0 \mu\text{g/ml}$, CCL では夏季に $1.0 \mu\text{g/ml}$ であったものが冬季に $8.0 \mu\text{g/ml}$ と耐性化が進んでいた。(図 5~6)。

5. PCR 法によるマクロライド耐性遺伝子の検討

A 保育園の園児では、1999 年 1 月 (冬季) には検出された肺炎球菌 25 株中、マクロライド耐性遺伝子である *mefA* 遺伝子のみが検出されたものは 11 株 (44.0 %) で、*ermB* 遺伝子のみが検出されたものは 4 株 (16.0 %) であり、いずれの耐性遺伝子も検出されなかった感性菌は 10 株 (40.0 %) であった。2004 年 8 月 (夏

季) には検出総数 22 株中全てが、*ermB* 遺伝子のみが検出された株であったのに対し、2005 年 1 月 (冬季) には検出総数 32 株中 *mefA* 遺伝子のみが検出された株は 22 株 (68.8 %) で、*ermB* 遺伝子のみが検出された株は 10 株 (31.2 %) であった。(図 7)

A 保育園の職員では、1999 年 1 月 (冬季) には肺炎球菌そのものが検出されず、2004 年 8 月 (夏季) には、検出された肺炎球菌は 1 株のみであり、*ermB* 遺伝子が検出された。2005 年 1 月 (冬季) には検出された肺炎球菌 3 株中、*mefA* 遺伝子のみが検出されたものは 1 株 (33.3 %), *ermB* 遺伝子のみが検出されたものは 2 株 (66.7 %) であった。

健診を受診した健康成人では、2004 年夏季においては肺炎球菌が検出された 6 株中、*mefA* 遺伝子のみが検出されたものは 4 株 (66.7 %) で、いずれの耐性遺伝子も検出されなかった株は 2 株 (33.3 %) であった。

2005 年冬季においては肺炎球菌が検出された 16 株中、*mefA* 遺伝子のみが検出されたものは 3 株 (18.8 %), *ermB* 遺伝子のみが検出されたものは 4 株 (25.0 %), いずれの耐性遺伝子も検出されなかった株は 9 株 (56.2 %) であった。(表 3)

6. 健康成人の肺炎球菌保菌率の増加因子について

2004 年夏季、2005 年冬季における健診を受診した健康成人 505 名では 20 名 (4.0 %) から肺炎球菌が検出された。505 名中 6 歳以下の同居家族のいる健康成人は 87 名であったが、そのうち 9 名 (9.4 %) から肺炎球菌が検出されたのに対して、6 歳以下の同居家族のない健康成人 409 名中では 11 名 (2.7 %) からのみ肺炎球菌が検出されており、乳幼児との密な接触のある群において有為に肺炎球菌検出率が高かった。* $p=0.006$ (図 8)

考 察

近年、耳鼻咽喉科の日常臨床において、ペニシリン耐性肺炎球菌による反復性、難治性の急性化膿性中耳炎例の増加が問題となっている。この中耳炎反復化、難治化の危険因子と考えられている集団保育の環境¹¹⁾ における、乳幼児と成人の上咽頭検出肺炎球菌の調査を行なった伊藤ら⁸⁾ の報告によると、保育園児からは非常に高率に上咽頭から肺炎球菌が検出され、その

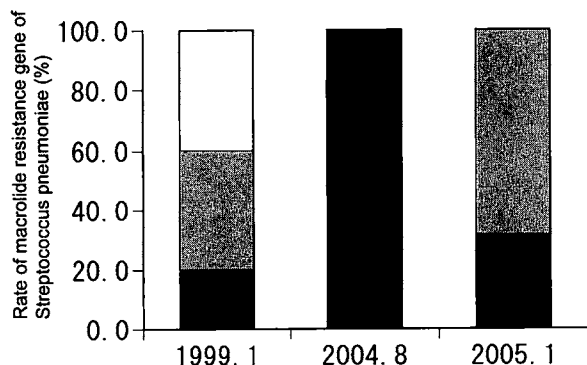


Fig.7. Distribution of *Streptococcus pneumoniae* in nursery-school children according to the presence of the macrolide resistance genes. □, negative; ▨, positive to *mefA*; ■, positive to *ermB*. n=25 (1999.1), n=22 (2004.8), n=32 (2005.1)

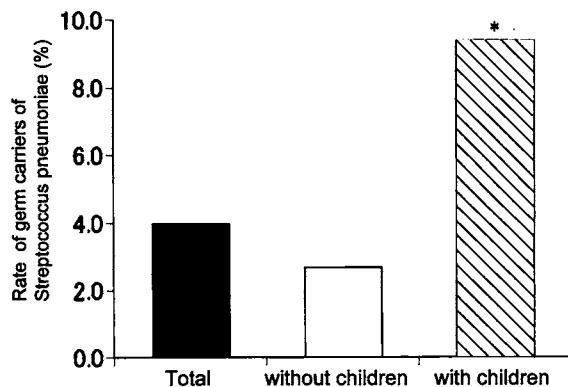


Fig.8. Rate of germ carriers of *Streptococcus pneumoniae* from adults in good health (medical examination) living with or without children equal to or less than 6 years old. ■, Total (n=505); □, without children (n=87); ▨, with children (n=409). * $p=0.006$ vs without children

耐性率も非常に高いものであった。その後急性中耳炎の治療方針として、第一選択薬としては経口ペニシリン系抗菌薬が推奨され、本邦においてそれまで漫然と使用されてきた経口セフェム系抗菌剤の使用を控える必要性が提唱されてきた。実際に抗菌薬販売量の調査報告によると本邦におけるセフェム系抗菌薬の使用量は過去5年間に73%に減少している一方で、ペニシリン系抗菌薬の使用量はほぼ不変のままであった。その結果2004年度の抗菌薬全体の使用量は、セフェム系抗菌薬の使用量減少を反映して2000年度の84%と総使用量が減ってきており、臨床現場では抗菌薬の安易な使用の抑制が進められていることが伺える。このような事実をふまえて、伊藤らの行ったA保育園の初回調査から6年後の今回、同一のA保育園における上咽頭由来の肺炎球菌保菌率の推移を比較検討した。

また近年、成人においてもPRSPやBLNARによる治療抵抗性の急性化膿性中耳炎症例^{12)~16)}の増加が報告されてきており、これらの耐性菌による難治性感染症の問題は乳幼児ばかりではなく、いまや全世代にとっての脅威となりつつある。感染症発症成人から検出された細菌の病原性を正しく判定するには、健常成人における常在菌叢を知る必要があるにも関わらず、過去にまとまった例数の健康成人の上咽頭肺炎球菌保菌率の報告はなされておらず、健康人の上咽頭常在細菌叢については不明であった。そこで今回、健康成人の上咽頭常在菌の実態を知るために拡大調査を行なった。

過去に急性化膿性中耳炎における耐性肺炎球菌検出率については多くの報告がみられるが^{17)~26)}、それぞれの検体採取部位が耳漏もしくは上咽頭と異なっており、また耐性の判定に関しても遺伝子変異による感受性分類¹⁰⁾の報告や微量液体希釈法のMIC測定による感受性分類、KB(Kirby-Bauer)ディスク法による分類など感受性分類の基準が様々であり統一されていない。耐性菌感染症の治療戦略の検討は、それぞれの耐性菌の分離頻度・耐性率・年次推移などの疫学的調査なしではできないが、元になる疫学調査の基準が異なっているために、いたずらに混乱を招く結果となっている。今回の検体採取部位は、急性中耳炎発症時の中耳貯留液から検出される細菌との一致率が高く、かつ検出率が高い²⁷⁾²⁸⁾上咽頭からとし、感受性分類にはPBP遺伝子変異による分類¹⁰⁾と微量液体希釈法によるNCCLS基準にもとづくMIC値分類⁹⁾の両者を施行し比較検討した。

今回検討したA保育園園児の上咽頭肺炎球菌検出率をみると、夏季で68.8%、冬季で88.9%と6年前(83.3%)と同様に高率に肺炎球菌が検出された(図1)。集団保育という環境は上気道感染症が頻繁に存在し、人口密度が高いために飛沫感染が起こり易いために、乳幼児間での肺炎球菌の伝播が促され、高い上咽頭保菌率につながることは明らかであろう²⁹⁾³⁰⁾。一方で、肺炎球菌が上咽頭から検出された園児が必ずしも難治性、反復性中耳炎に罹患するというわけではなく、宿主の免疫学的成熟度が難治性感染症の発症に大きく関与している³¹⁾。このような状況において、反復性中耳炎罹患児は、一旦中耳炎の改善がみられても保育園に通園を再開すると、すみやかに周囲の保育園児から耐性肺炎球菌が再感染してしまうのである。

それでは、夏季と冬季における肺炎球菌保菌率の違いはどうか？ 今回の検討では、園児における肺炎球菌保菌率は夏季で68.8%、冬季は88.9%と、冬季に検出率が高くなる傾向が伺えた(図1)。この分離率の季節的変動は、上気道肺炎球菌感染症の罹患児における検出頻度の報告でも指摘されている

ことであり³²⁾、ウイルス感染が流行し易い冬季では、ウイルスがヒト上皮細胞を変性、破壊させるため、細菌の上皮内侵入と増殖がおこるためと考えられる³³⁾。特に肺炎球菌は気道上皮細胞に血小板活性化因子(platelet-activating factor)受容体の発現を誘導し、菌の定着を促進する³⁴⁾³⁵⁾ことが知られている。

次に、園児から検出された肺炎球菌のPBP遺伝子変異による耐性分類の検討では、1999年1月(冬季)にはPRSPは52.0%と半数以上を占めていたが、今回の調査では2004年8月(夏季)、2005年1月(冬季)ともにPRSPは激減し、代わりにPISPが95%以上と大多数を占めるという結果であった。(図2)1999年には米国疾病管理センター(Centers for Disease Control, CDC)が、アモキシシリン(amoxicillin, AMPC)を中心とした小児急性中耳炎に対するガイドライン³⁶⁾を提唱した。そのころに本邦においても過去に行なわれてきた安易な抗菌薬の使用、特に経口セフェム系抗菌薬の濫用が肺炎球菌の耐性株の増加原因になっているとの警告が発せられた。その後急性中耳炎の第一選択薬としては経口ペニシリン系抗菌薬を中心とした治療方針が提唱³⁷⁾³⁸⁾され、徐々に臨床の現場に浸透してきた感がある。急性中耳炎治療の抗菌薬処方内容の変遷についての正確な統計はなく詳細は不明であるが、抗菌薬全体の使用量は最近の5年間で84%に減少しており、特にセフェム系抗菌薬の使用は74%に減少していることから、近年セフェム系抗菌薬の安易な使用には歯止めがかかってきていることは確かである。このことがPRSP保菌率の減少に関与しているのかもしれない。臨床分離株の最近の報告でも、PRSPの減少とPISPの増加という同様の現象が報告されていることは興味深い³⁹⁾⁴⁰⁾。

PISPの検出率は、1999年1月には36.0%であったが、2004年8月には95.5%、2005年1月では96.9%となっており、今回はほとんどの肺炎球菌がPISPに変化していた。しかし同じPISPでもPBP遺伝子変異の詳細をみると、*pbp1a*、*2x*、*2b*の変異の比率は、1999年時には56%、76%、52%であったものが、2004年8月には各々41%、100%、4.5%、2005年1月には各々94%、100%、3.1%と変化していた。遺伝子学的な観点からは、各耐性遺伝子変異株の増加には、それぞれの変異株の生存のための進化の圧力があると考えられる。今回みられた*pbp1a*、*pbp2x*変異株の増加はセフェム耐性が依然進行していることを示唆していることから、セフェム系抗菌薬の使用総量が過去5年間で74%に減少しているとはいえ、まだまだ肺炎球菌の耐性化誘導の圧力となっている可能性がある。一方、近年のPRSPの激減現象は*pbp2b*変異の著明な減少が原因と考えられるが、*pbp2b*変異はペニシリン系薬剤の耐性化に関与することが知られているものの、*pbp2b*変異株増加をおこす選択圧はいまだ不明である。あるいは、複数の肺炎球菌株が上咽頭に常在していることが知られており、耐性遺伝子を多くもつPRSPはPISPやPSSPに比べて健常な上咽頭の環境適応には適さないとも推測されることから、PRSPが他の菌株によって駆逐され検出不可能なレベルにまで減量しているのかも知れない。PBPの各遺伝子変異の誘導圧力について知ることは、耐性菌を増やさないための感染症治療戦略にとって重要であり今後の検討が望まれる。

2004年8月(夏季)と比べて2005年1月(冬季)には、*pbp2x*単独変異株が激減し、*pbp1a*と*pbp2x*の両変異株が大多数となっていた(図3)。このことをβラクタム系抗菌薬の感受性分布でみると、ペニシリン系抗菌薬であるABPCではMICのピークは変わらず、PCGでは1管のみ耐性が進んでいたのに対し、

セフェム系抗菌薬であるCDTRでは2管耐性化が進んでおり、CPDX、CFDN、CCLでは3管耐性化が進んでいた(図5, 6)。つまりこのような短期間のうちにも、ペニシリン系抗菌薬の耐性より、セフェム系抗菌薬による耐性が進行していたことが明らかになった。このことはペニシリン系抗菌薬による肺炎球菌の耐性化には $pbp1a$ と $pbp2b$ の遺伝子変異が関与しており、 $pbp2x$ の遺伝子変異の影響は少ないとされ、 $pbp2x$ に $pbp1a$ の遺伝子変異が加わることによってセフェム系抗菌薬の耐性が強くなるというCoffeyら³⁰⁾の報告とも一致していた。問診表による調査では、1ヶ月以内に内服既往のある園児すべて(6名)が、1週間以上にわたり同じセフェム系抗菌薬を投与されていたり、他のセフェム系抗菌薬に変更投与されていた。このことから冬季のウイルス感染流行期にセフェム系抗菌薬の投与が続くと、これが選択圧となり、このような小集団では短期間にセフェム系抗菌薬の耐性が進む可能性が示唆された。

肺炎球菌のマクロライド系薬耐性には二つの耐性機構が知られている。薬剤排出機構を介した耐性に関与する $mefA$ 遺伝子を有する耐性株は、14員環系マクロライドに耐性を示すが、16員環系マクロライドやクラシリン(*clindamycin*, CLDM)に対しては感受性を示す。もう一つのメチラーゼによる耐性に関与する $ermB$ 遺伝子を有する株は、14員環系、16員環系、CLDMという既存の大部分のマクロライド系抗菌薬に耐性を示すことが知られている^{42)~44)}。6年前に園児から検出された肺炎球菌の60%にマクロライド系抗菌薬耐性遺伝子がみられたのに比し、今回の調査結果では、夏季、冬季ともに園児から検出された肺炎球菌の全てにマクロライド系抗菌薬耐性遺伝子の発現がみられた。PBP遺伝子の変異が多くなりペニシリン系やセフェム系抗菌薬に対する耐性度が増すにつれて、マクロライド系薬耐性遺伝子の検出率が増加するという報告もみられるが、6年前に比べて今回の方が園児から検出された肺炎球菌のPBP遺伝子変異は軽度であるにもかかわらず、今回の方がマクロライド系薬耐性遺伝子の保有率が高かったことから、PBP遺伝子変異とマクロライド系薬耐性遺伝子の発現は別のものであると推測された。ところでマクロライド系抗菌薬は抗菌作用以外にも様々な作用があることから、成人の呼吸器感染症や慢性副鼻腔炎に対して、少量長期投与が推奨され有効性の報告がみられている。さらに本邦においては小児の副鼻腔炎や滲出性中耳炎などに対しても、マクロライド系抗菌薬の少量長期投与が行なわれる向きもあるが、今回示したような高い耐性化が進んできている点を考慮して、その安易な使用には十分に注意が必要である。

一方健康成人の上咽頭から検出される肺炎球菌は、保育園職員では6年前には全く検出されなかったが、今回の調査では12%~27%から肺炎球菌が検出された。いずれにしても保育園児の上咽頭保菌率に比べるとかなり少ないのであるが(図1)、保育園職員は多くの肺炎球菌保菌園児と密接な接触をもつ仕事であることから、この値がそのまま市井の健康成人の肺炎球菌保菌率を表しているとは言い難い。そこで健康診断を受診した健康成人についての拡大調査を行い、市井一般の成人の上咽頭常在菌を検討した。その結果、成人全体では上咽頭の肺炎球菌保菌率は4.0%(505人中20人から検出)であるが、6歳以下の同居家族のある健康成人では9.4%(96人中9人から検出)なのに対し、6歳以下の同居家族のない健康成人の保菌率は2.7%(409人中11人から検出)であり、乳幼児の同居家族のあるグループにおいて有意に(* $P=0.006$)肺炎球菌検出率が高い結果であった

(図8)。成人の肺炎球菌保菌率について夏季と冬季という季節間の変動をみると、保育園職員では夏季12.5%に対して冬季27.3%、健康成人では夏季2.9%に対して冬季5.3%であり、保育園児と同様に冬季には検出率が高くなる傾向が伺えた(図1)。

乳幼児と比べて、保育園職員を含む健康成人では肺炎球菌保菌率が低い理由は何であろうか?成人の難治性中耳炎の感染経路として、家庭内など身近な乳幼児からの飛沫感染があげられているが、感染経路は果たしてそれだけなのであろうか。確かに乳幼児との密な接触が成人の肺炎球菌保菌に関わる危険因子のひとつであることは、今回の検討でも明らかであるが、6歳以下の乳幼児とは全く接触のない健康成人のなかにも保菌者はみられていることもまた事実である。また乳幼児には稀で成人に多いといわれるムコブス中耳炎の原因菌となるムコイド型肺炎球菌は、少数ではあるが成人由来の検体からのみ検出されている。例えば保育園児由来の肺炎球菌は全てスムーズ型であるにも関わらず、保育園職員からはムコイド型が検出されている。文献的にも成人の急性中耳炎や急性副鼻腔炎症例からは、ムコイド型肺炎球菌が多く検出されているとの報告がみられる¹⁶⁾。これらの事実から推察すると、健康成人においても実はもっと多くの例において肺炎球菌が上咽頭の常在菌として安定した状態で存在している可能性がある。一般に培養可能な菌量というのは、 1×10^3 CFU/ml以上であり、それ以下の菌量の場合、細菌は存在していても検出できないとされる。つまり、成人においても検出できないような微量な菌量で肺炎球菌が常在菌として存在しており、ウイルス感染などによるヒト上皮細胞の変性・破壊によって細菌が上皮へ侵入増殖する結果、上咽頭より検出されるようになるのかも知れない³³⁾。

今回の遺伝子解析による感受性判定(図2)の結果と微量液体希釈法のMIC測定による感受性判定(NCCLS基準)の結果(図4)はかなり隔たりがみられたが、臨床の現場においてこの感受性判定の解離現象は大きな問題を提起する。現在、遺伝子解析による感受性判定は臨床応用されておらず、後者のMICに基づくNCCLS判定が臨床で実施されている。今回の検討では、前者で耐性とされているものの多くが、NCCLS判定では感受性株と判定されていた。さらに本邦の多くの検査センターでは、現在も薬剤感受性判定にはKBディスク法が用いられているが、この方法では検出された肺炎球菌の厳密な耐性分類は困難である。また、この方法ではNCCLSの基準では、オキサシリンのディスクで感(阻止円20mm以上)と判定された際にはABPC、AMPC、CCL、セフトリアキソン(*ceftriaxone*)等は感(阻止円19mm以下)と判定され、それらの感受性は改めてしなくてもよいともされ、オキサシリンのディスクで19mm以下の阻止円の場合には、 β -ラクタム系抗菌薬についてはMICを測定するように推奨されている⁴²⁾。一方、微量液体希釈法のMIC測定による感受性判定(NCCLS基準)は、細菌性髄膜炎の化学療法を想定して設定されたにもかかわらず⁴³⁾、実際の臨床における治療効果との相関は必ずしも高くはない。また欧米の抗菌薬とその投与量をもとに決められており、そのまま本邦に当てはめて判断することはできない。このことから実際の臨床効果との一致率が高くより臨床に即した判定法として、PBP遺伝子解析による感受性判定の臨床への導入が望まれている。

今回の検討において、夏季の園児では $pbp2x$ 単独変異株が59.1%を占めていたが、これは微量液体希釈法によって測定されたMICでみると、ペニシリン系抗菌薬では感受性を示すが

セフェム系抗菌薬には軽度耐性を示していた。また、冬季の園児では *pbp2x* と *pbp1a* の両変異株が 90.6 % を示していたが、夏季の園児に比べてペニシリン系抗菌薬では 1 管耐性が進んでいたのに対し、セフェム系抗菌薬では最も感受性の良い CDTR でも 2 管の耐性が進んでいた。このことは今回冬季に検出された肺炎球菌に関しては、たとえ NCCLS の基準でペニシリン系抗菌薬感受性 (PCG で MIC \leq 0.06) であったとしても、セフェム系抗菌薬の常用量では臨床効果は期待できないということを示している。急性中耳炎治療の第一選択薬は、ペニシリン系抗菌薬であるが、ペニシリン系が無効な場合には経口セフェム系抗菌薬の 2 倍量程度の投与を行なうしかないのが現状である。しかし一般に耳鼻咽喉科領域の中耳および上咽頭は、薬剤移行性が低く、血中濃度のおよそ 1/10 ほどしか到達できないとされており⁴⁰⁾、またセフェム系抗菌薬はペニシリン系抗菌薬に比し低い血中濃度しか得られず、さらに、ペニシリン系抗菌薬の臨床効果は起炎菌の MIC 以上の濃度を保った時間 (time above MIC) を投与時間の 29 % ~ 34 % 以上、セフェム系抗菌薬では 35 ~ 55 % 以上に維持する必要があるともされている^{45)~51)}。このことから、経口セフェム系薬の増量投与を行なっても十分に制御できないような肺炎球菌感染症が増加しており、このような難治例では静注抗菌薬投与と鼓膜チューブ挿入術などの外科的治療を併用せねばならない。

ペニシリン耐性肺炎球菌の治療において KB ディスク法で判定治療するのは困難であるため、現状では微量液体希釈法による MIC 測定を行い、抗菌薬の薬物動態学 (pharmacokinetics) や薬力学 (pharmacodynamics) を考慮したうえで、感受性を経験的に判定していかなければならない。しかし昨今の耐性菌の蔓延により、もはや MIC と NCCLS の基準だけに頼って抗菌薬を投与することは危険であることを認識し、早期に PCR 法による耐性判定を臨床適応していくことが望まれる。また臨床の現場において、MIC の数値と臨床効果の相関関係の解析をさらに進めることによって、本邦独自の感受性判定基準を作成し、これをもとに感染症治療ガイドラインを作成、変更していく必要がある。

結 論

0 歳児を扱う低年齢保育園の園児および保育園職員、および市井一般の健康成人の上咽頭細菌叢における肺炎球菌の検出状況および薬剤耐性化の実態について、1999 年に行なわれた同じ保育園の調査結果⁸⁾との経年的変化について検討し、次の結果を得た。

1. 0 ~ 3 歳の保育園児の上咽頭肺炎球菌保菌率は、1999 年冬季 (83.3 %) と同様に、6 年後の 2004 年夏季では 68.8 %, 冬季では 88.9 % であり、ともに高い保菌率を示した。
2. 健康成人においては、夏季 2.9 %, 冬季 5.3 % と保育園児と比べてかなり低い保菌率であった。
3. 6 歳以下の乳幼児との緊密な接触がある健康成人では、肺炎球菌の保菌率が高いことが示された。しかし、乳幼児間の菌株の水平伝播に比べて、乳幼児から成人への肺炎球菌の伝播率は低かった。
4. 0 ~ 3 歳の保育園児の PBP 遺伝子変異分類による肺炎球菌耐性率は、1999 年冬季には PSSP 12.0 %, PISP 36.0 %, PRSP 52.0 % であったが、2004 年夏季には PSSP 0.0 %, PISP 95.5 %, PRSP 4.5 %, 2005 年冬季には PSSP 0.0 %, PISP 96.9 %, PRSP 3.1 % とな

り、6 年前よりむしろ耐性化が減弱していることが示された。

5. 0 ~ 3 歳の保育園児から検出された肺炎球菌は、2004 年夏季には *pbp2x* 単独変異株 59.1 %, *pbp1a* と *pbp2x* ともに変異のある株 36.4 % であり、2005 年冬季には *pbp2x* 単独変異株 6.3 %, *pbp1a* と *pbp2x* ともに変異のある株 90.6 % と、同じ PISP に分類される菌株ではあるが、わずか 5 か月間で PBP 遺伝子変異の進行がみられた。このことを minimal inhibitory concentration の推移の結果と照らし合わせると、ペニシリン系抗菌薬に比べてセフェム系抗菌薬の耐性化がより進行していることが示された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御教鞭を賜りました恩師古川 仰教授に深甚なる謝意を表します。また終始御指導を賜りました同教室伊藤真人講師、ならびに細菌培養に関し御指導とご助言を頂きました、金沢大学付属病院検査部藤田信一助教授、千田靖子技師に心から感謝致します。また遺伝子解析、感受性試験に御協力頂いた明治製菓、検体採取に御協力頂いた北陸予防医学協会に深謝致します。

文 献

- 1) 山中 昇, 保富宗城: 中耳炎の難治化の要因. 小児科 40 : 1093-1099
- 2) 山中 昇, 保富宗城: 変貌する急性感染症. 耳鼻臨床 93 : 431-437, 2000
- 3) David W. Teele, Jerome O. Klein, Bernard A. Rosner. Epidemiology of otitis media in children. Ann Otol Rhinol Laryngol 89: 5-6, 1980
- 4) Comisso R, Romero-Orellano F, Montanaro PB, Romero-Orellano F, Romero-Diaz R. Acute otitis media: bacteriology and bacterial resistance in 205 pediatric patients. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 56: 23-31, 2000
- 5) 末武光子, 入間田美保子: 耐性肺炎球菌と急性中耳炎の難治化. JOHNS 13: 1147-1151, 1997
- 6) 杉田麟也: 小児急性中耳炎検出菌と薬剤感受性. JOHNS 13: 1139-1145, 1997
- 7) 宇野芳史: Penicillin 耐性肺炎球菌による幼児急性中耳炎の臨床的, 細菌学的検討. 日本化学療法学会雑誌 46: 396-403, 1998
- 8) 伊藤真人, 白井明子, 巽亜希子, 吉崎智一, 西村俊郎, 古川 仰. 保育園児の鼻咽腔ペニシリン耐性肺炎球菌. 耳鼻咽喉科臨床 92: 1071-1079, 1999
- 9) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement, NCCLS, 2004
- 10) Ubukata K, Muraki T, Igarashi A, Asahi Y, Konno M. Identification of Penicillin and other Beta-Lactam Resistance in Streptococcus pneumoniae by Polymerase Chain Reaction. J Infect Chemother 3: 190-197, 1997
- 11) 山中 昇: 反復性中耳炎の治療. JOHNS 13 : 1152-1157, 1997
- 12) 浅野公子, 今島直俊, 渋谷恵夏, 杉内知子, 川村直子. ムコーズ中耳炎成人新鮮症例. Otol Jpn 13: 209-213, 2003
- 13) 末武光子, 入間田美保子, 高橋 辰, 沖津尚弘, 大山健二. ムコーズ中耳炎の現況と問題点. Otol Jpn 10: 89-94, 2000
- 14) 堀江知子, 鈴木 亨, 伊藤彰英, 加藤賢史: ムコーズ中耳炎の 2 症例. トヨタ医報 14: 49-53, 2004

- 15) 成尾一彦, 宮原 裕, 笹井久徳, 松代直樹. ペニシリン耐性菌によるムコブズ中耳炎例. 耳鼻臨床 98: 125-130, 2005
- 16) 杉田麟也. 上気道感染症, 特に急性中耳炎. 化学療法の領域 19: 1918-1926, 2003
- 17) 宇野芳史, 渡辺信介, 二木芳人, 松島 敏春. 肺炎球菌による小児急性中耳炎の細菌学的, 疫学的臨床的検討 日本化学療法学会雑誌 47: 387-395, 1999
- 18) 杉田麟也, 出口浩一, 藤巻 豊, 浅井俊治, 阿久津勉, 岡野和洋, 小松信行, 清水浩司, 斉藤成明, 渡辺 洋. 小児急性化膿性中耳炎に対する Sulatamicillin 顆粒の臨床効果と細菌学的検討. Chemotherapy 41: 1018-1023, 1993
- 19) 杉田麟也, 出口浩一, 木村 繁, 原田品子, 藤巻 豊, 渡辺 洋, 内藤雅夫, 野村隆彦, 田中幹夫, 小松信行, 清水浩二, 吉田悌友, 岡野和洋. PC 低感受性肺炎球菌による小児急性中耳炎に対する Cefditren pivoxil 粒剤の臨床効果と細菌学的検討. Jap J Antibiotics 49: 386-398, 1996
- 20) 宇野芳史. 1998-2000 年に小児急性中耳炎から検出された *Streptococcus pneumoniae* の抗菌薬感受性の変化. 日本化学療法学会雑誌 50: 854-869, 2002
- 21) 宇野芳史. 小児急性中耳炎例の鼻咽腔から検出された *Streptococcus pneumoniae* の分子遺伝学的検討. 日本化学療法学会雑誌 52: 68-74, 2004
- 22) 坂田 宏. 小児呼吸器感染症患者の上咽頭から検出された *Streptococcus pneumoniae* および *Haemophilus influenzae* の検討. 小児感染免疫 14: 17-23, 2002
- 23) 大沼田あや子, 坂本 裕, 都築 達, 松永達雄, 小川浩司, 橋口一弘, 青山辰夫. 鼻腔, 中耳腔から検出されたペニシリン中等度耐性肺炎球菌についての検討. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌 12: 15-19, 1994
- 24) 根ヶ山清, 高島千恵. 四国地区におけるペニシリン耐性肺炎球菌の検出状況. 日本微生物学雑誌 6: 12-17, 1996
- 25) Coles CL, Kanungo R, Rahamathullah L, Thulasiraj RD, Katz J, Santosham M, James M. Pneumococcal nasopharyngeal colonization in young South Indian infants. *Pediatr Infect Dis J* 20: 289-295, 2001
- 26) Soewignjo S, Gessner BD, Suntanto A, Steinhoff M, Prijanto M, Nelson C, Widjaya A, Arjoso S. *Streptococcus pneumoniae* Nasopharyngeal Carriage Prevalance, Serotype Distribution, and Resistance Patterns among Children on Lombok Island, Indonesia. *Clin Infect J* 32: 1039-1043, 2001
- 27) 杉田麟也, 市川銀一郎, 後藤重雄, 柏木譲治. 急性化膿性中耳炎における中耳と上咽頭の細菌の関係. 日耳鼻 82: 751-757, 1979
- 28) 紺野昌俊, 生方公子. 肺炎球菌検出例の背景. 改訂ペニシリン耐性肺炎球菌, 第 2 版, 53-63 頁, 協和企画通信, 東京, 1999
- 29) Boke DJ, Chartland SA, Goering RV. Colonization with penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a child-care center. *Pediatr Infect Dis J* 14: 879-884, 1995
- 30) Yagupsky P, Porat N, Franser D, Prajrod F, Merires M, McGee L, Keith K, Ron Dagan. Acquisition, carriage and transmission of pneumococci with decreased antibiotic susceptibility in young children attending a day care facility in southern Israel. *J Infect Dis* 177: 1003-1012, 1998
- 31) 山中 昇. 上気道・耳鼻咽喉科領域における細菌感染症. 化学療法の領域 18: 53-63, 2002
- 32) 雨宮一彦, 井上 豊, 嶋田直美, 長崎広美. 臨床検査材料における肺炎球菌の検出状況と薬剤感受性および血清型. 感染症誌 72: 1163-1169, 1998
- 33) Peltola V T, McCullers J A. Respiratory viruses predisposing to bacterial infections: role of neuraminidase. *Pediatr Infect Dis J* 23: S87-S97, 2004
- 34) Cundell DR, Gerard NP, Gerard C, Idanpaan-Heikkila I, Tuomanen EI. *Streptococcus pneumoniae* anchor to activated human cells by the receptor for platelet-activating factor. *Nature* 377: 435-438, 1995
- 35) Ishizuka S, Yamaya M, Suzuki T, Takahashi H, Ida S, Sasaki T, Inoue D, Sekizawa K, Nishimura H, Sasaki H. Effects of rhinovirus infection on the adherence of *Streptococcus pneumoniae* to cultured human airway epithelial cells. *J Infect Dis* 188: 1929-1940, 2003
- 36) Dowell SF, Bulter JC, Giebink GS, Jacobs MR, Jernigan D, Musher DM, Rakowsky A, Schwartz B. Acute Otitis Media-management and surveillance in an era of pneumococcal resistance a report from therapeutic working group. *Pediatr Infect Dis J* 18: 1-9, 1999
- 37) 保富宗城, 山中 昇. 急性中耳炎の重症度分類と治療指針. 日耳鼻感染症研究会誌 20: 136-139, 2002
- 38) 工藤典代. 小児鼻副鼻腔炎の治療の実践. 薬剤耐性菌による上気道・下気道感染症に対する治療戦略 (山中 昇, 横田 俊平編), 第 1 版, 70-79 頁, 金原出版, 東京, 2002
- 39) 林 達哉, 安部祐介, 岸部 幹. 北海道根室市における小児急性中耳炎起炎菌の経年変化. *Otol Jpn* 12: 251, 2002
- 40) 富山道夫. 小児上気道感染症に対する抗生物質選択と薬剤耐性菌の検出頻度に関する検討. 日耳鼻 107: 156-168, 2004
- 41) Coffey TJ, Daniels M, McDougal LK, Dowson CG, Tenover FC, Spratt BG. Genetic analysis of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* with high-level resistance to expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 39: 1306-1313, 1995
- 42) Sutcliffe J, Grebe T, Tait-Kamradt A, Lillian W. Detection of erythromycin-resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 2562-2566, 1996
- 43) Nakajima Y. Mechanism of bacterial resistance to macrolide antibiotics. *J Infect Chemother* 5: 61-74, 1999
- 44) 柴崎有美, 生方公子. ペニシリン耐性肺炎球菌-マクロライド耐性も含めて-. 日本臨床 59: 681-686, 2001
- 45) 紺野昌俊, 生方公子. 肺炎球菌検出例の背景. 改訂ペニシリン耐性肺炎球菌, 第 2 版, 117-129 頁, 協和企画通信, 東京, 1999
- 46) Thornsberry C, Swenson M. Antimicrobial susceptibility tests for *S. pneumoniae*. *Laboratory Medicine* 11: 83-86, 1980
- 47) 生方 公子. 肺炎球菌とインフルエンザ菌についての疫学的考察. *Jap J Antibiotics* 54: 72-79, 2001
- 48) Craig WA. Choosing an antibiotic on the basis of pharmacodynamics. *Ear Nose Throat J* 77: 7-11, 1998
- 49) Craig WA. Does the dose matter? *Clin Infect Dis* 33: S233-237, 2001
- 50) Craig WA. Re-evaluating antibiotic therapy. *Respiratory Medicine* 95: 12-19, 2001
- 51) Turnidge J D. The pharmacodynamics of beta-lactams. *Clin Infect Dis* 27: 10-22, 1998

Examination of the resistance trend of nasopharynx origin streptococcus pneumoniae in a normal child and adult(Examination of nasopharynx bacterial flora in consideration of an infectious disease treatment strategy) Riki Nagata, Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Kanazawa University. Kanazawa 920-8640— J. Juzen Med. Soc., **115**, 75 — 85 (2006)

Key words penicillin highly resistant Streptococcus Pneumoniae, penicillin intermediate resistant Streptococcus Pneumoniae, penicillin binding protein, minimum bacterial concentration.

Abstract

Recently, a rapid increase in the penicillin resistance (Pcr) of Streptococcus pneumoniae and β -lactamase negative ampicillin resistant strains of Haemophilus influenzae (BLNAR) has been reported in Japan. Pcr S.pneumoniae and BLNAR are the principal causes of recurrent acute otitis media (AOM). Children attending daycare centers have more frequent episodes of AOM than those cared for at home. In order to investigate the bacteriologic and clinical interpretation of the flora of the nasopharynx from children attending daycare centers, S. pneumoniae was examined in 1999. In this study, we obtained nasopharyngeal swab specimens from healthy children attending the same daycare center in Kanazawa city during 2004-2005 and examined the change in the incidence of resistant strains of S. pneumoniae. In addition, we examined the flora of the nasopharynx from healthy adults attending a health examination to investigate the carrier rate of S.pneumoniae. S. pneumoniae was identified in 83.3% children attending a daycare center in winter 1999, 68.8% in summer 2004 and 88.9% in winter 2005. The carrier rates of PRSP, PISP and PSSP from children attending the same daycare center were 52%, 36%, 12% in winter 1999, 4.5%, 95.5%, 0% in summer 2004 and 3.1%, 96.9%, 0% in winter 2005 respectively. Although the carrier rates of PISP were similar in summer 2004 and winter 2005, pbp gene mutation progression was observed within these 5 months. S. pneumoniae was identified in 2.9% healthy adults in summer 2004 and 5.3% in winter 2005. Our results demonstrated that the carrier rate of PRSP in the children attending daycare center has decreased dramatically in recent years and pbp gene mutations vary according to the season and the administered antimicrobial agents to the children.